УДК 594.1+576.89+504.731.74.06

ВЗАИМООТНОШЕНИЯ ПАРАЗИТ—ХОЗЯИН У ГЛОХИДИЕВ ЕВРОПЕЙСКОЙ ЖЕМЧУЖНИЦЫ MARGARITIFERA MARGARITIFERA (MARGARITIFERIDAE: BIVALVIA) И МАССОВЫХ ВИДОВ РЫБ ЕВРОПЕЙСКОГО СЕВЕРА СССР

В. В. Зюганов, Л. П. Незлин, А. А. Зотин, А. С. Розанов

Получены экспериментальные доказательства узкоспецифичности личинок (глохидиев) европейской жемчужницы к благородным лососям в реках Кольского п-ова. Показано, что в жабрах гольяна, другой массовой рыбы рек севера СССР, глохидии жемчужницы неспособны развиваться и гибнут. Обсуждены причины узкоспецифичности жемчужниц к лососевым рыбам.

Проведено гистологическое изучение развития глохидиев (Гл) в жабрах семги (*Salmo salar* L.) и гольяна [*Phoxinus phoxinus* (L.)]. Показано, что у семги Гл развиваются нормально, увеличиваясь за 18 сут от 50 до 450 мкм. Заражение семги дозой в 50 тыс. Гл не вызывает выраженных патологических изменений поведения и формулы крови, доза 500 тыс. вызывает ухудшение состояния рыб, а доза 1 млн — летальна. У гольяна Гл первоначально закрепляются на жабрах, но в дальнейшем их количество уменьшается, и к 16-м суткам Гл в жабрах не обнаруживаются. Это свидетельствует о том, что гольян не является специфическим хозяином Гл.

В изучении биологии пресноводных двустворчатых моллюсков надсем. Unionoidea, развитие которых невозможно без участия рыб, большое значение имеет анализ паразит-хозяинных взаимоотношений личиночных стадий моллюсков (глохидиев) и различных видов рыб, в тканях которых происходит метаморфоз глохидиев. Особенно важно это при исследовании возможностей реакклиматизации исчезающих видов жемчугоносных моллюсков. Без знания круга хозяев глохидиев, восприимчивости различных видов рыб, а также патогенности глохидиев невозможна разработка технологии восстановления популяций моллюсков.

До сих пор в отечественной литературе в качестве основного хозяина глохидиев европейской жемчужницы *Margaritifera margaritifera* указывается гольян *Phoxinus phoxinus* (L.) (Быховский, 1962). Это мнение основано на данных Жадина (1939), который провел искусственное заражение 5 экз. гольянов и через 4 сут обнаружил в жабрах инкапсулировавшихся глохидиев. В зарубежной литературе ранее также указывали на широкий круг видов рыб — хозяев глохидиев жемчужницы (Harms, 1907; Murphey, 1942; Wellmann, 1943). Однако в настоящее время появляются данные о том, что различные виды жемчужниц специфичны только к лососевым рыбам (Bauer, 1987).

Целью нашей работы было экспериментальное изучение развития глохидиев европейской жемчужницы на жабрах семги и гольяна как наиболее массовых представителей ихтиофауны северных лососевых рек, а также определение

патогенности глохидиев для рыб и максимально допустимой интенсивности заражения, не оказывающей отрицательного воздействия на жизнеспособность хозяев.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Работа проводилась в августе—сентябре 1987—1988 гг. на рр. Варзуга и Кица Кольского п-ова, объектами служили массовые виды рыб гольян *Phoxinus phoxinus* (L.) и семга *Salmo salar* L., которых содержали в садках и заражали суспензией глохидиев европейской жемчужницы. Жемчужниц собирали в колониях в реке в преднерестовый период и выдерживали в садках. Заражение глохидиями гольянов (в опыте было использовано 45 взрослых рыб длиной 6—8 см) проводилось методом инкубации рыб в аквариуме объемом 3 л в суспензии с концентрацией 300 глохидиев на 1 мл речной воды в течение 30 мин при постоянной аэрации и перемешивании. Зараженных гольянов фиксировали целиком в 4%-ном нейтральном формалине по 5 экз. через каждые 2—5 сут начиная со 2-го дня после заражения. Через 18 сут зафиксированы все оставшиеся экземпляры, и опыт прекращен. У фиксированных гольянов вырезали жабры для приготовления тотальных препаратов и подсчета глохидиев.

Для заражения глохидиями было использовано 13 экз. осенней рассы семги весом 2—3 кг (возраст 5—6 лет), только что зашедшей в устье реки. Использовались дозы заражения в 1 млн (3 экз.), 0.5 млн (4 экз.), 100 тыс. (2 экз.) и 50 тыс. (4 экз.) глохидиев на рыбу. 8 экз. находились в контроле. Методика заражения семги и подсчет инкапсулированных глохидиев в жабрах на парафиновых срезах жаберных лепестков описаны ранее (Зюганов и др., 1988). Однако в дальнейшем удалось значительно упростить методику поиска и подсчета глохидиев в жабрах рыб так, что эти операции можно теперь проводить в полевых условиях. Жаберные лепестки семги (или жабру гольяна целиком), фиксированные 4%-ным нейтральным формалином, помещали в 5%-ный раствор глицерина в дистиллированной воде, выпаривали его при 50° в течение суток и заключали в глицерин-желатину на предметных стеклах. Под микроскопом на просветленных таким образом жаберных лепестках глохидии хорошо видны. Препараты фотографировали микрофотонасадкой МФН-10. У гольянов подсчитывали абсолютное число глохидиев на одной внешней жаберной дужке. У семги определяли число глохидиев на 20 вторичных жаберных лепестках, взятых по 5 лепестков из разных зон каждой жаберной дужки правой жабры. Результаты пересчитывали на 1 вторичный лепесток.

Кровь для определения патогенного воздействия брали пипеткой из хвостовой вены у 4 зараженных (доза 50 тыс. глохидиев) и 4 контрольных экземпляров семги. Подсчет форменных элементов крови проводили в камере Горяева по стандартной методике.

РЕЗУЛЬТАТЫ

1. Экспериментальное заражение семги. Заражение 1 млн глохидиев (пропускание через жабры 2.5 л суспензии, содержащей 400 глохидиев на 1 мл) приводило к гибели семги в течение 1 ч после заражения. Доза в 0.5 млн. глохидиев вызывала ухудшение состояния рыб (в течение суток рыбы плавали на боку или кверху брюхом, резко замедлялись оперкулярные движения), но не приводила к их гибели. Доза в 100 тыс. глохидиев не вызывала видимого патогенного эффекта. Для дальнейших экспериментов была выбрана доза в 50 тыс. глохидиев на рыбу, для которой отсутствие патологического эффекта показано по отсутствию изменений в поведенческих реакциях рыб по сравнению с контрольными и по отсутствию изменений эритроцитарно-лейкоцитарной формулы крови (табл. 1).

Таблица 1

Количество форменных элементов крови семги через 18 сут после заражения глохидиями европейской жемчужницы (доза 50 тыс. глохидиев на рыбу)

Amount of formed elements in blood of salmon 18 days after the infection with glochidia of *M. margaritifera* (50 thous. glochidia per fish)

Сравниваемые группы	Количество, экз.	Количество эритроцитов (млн/мм^3) $M+m$	Количество лейкоцитов (тыс./мм^3) $M+m$
Незараженные рыбы (контроль)	4	0.98±0.05	1662+5.38
Зараженные рыбы (опыт)	4	1.15±0.09	1498+5.50

Отсутствие отрицательного воздействия операции заражения показано пропусканием через жабры рыб тех же объемов надосадочной жидкости после осаждения глохидиев в суспензии (в опыте было 4 экз.).

В среднем на одном жаберном лепестке инкапсулируется 5±2 глохидиев (рис. 1, *а*). У взрослой семги имеется в среднем 1.0—1.5 тыс. лепестков. Таким образом, на одной рыбе закрепляется приблизительно 5—7.5 тыс. глохидиев, т. е. эффективность заражения семги глохидиями при дозе 50 тыс. глохидиев на рыбу составила 10—15 %. Все глохидии были инкапсулированы, и наблюдалось постепенное увеличение их размера от 50—70 мкм (начало опыта) до 400—450 мкм (через 18 сут), что свидетельствует о нормальном развитии.

При изучении гистологических срезов жаберных лепестков семги, зараженной глохидиями, гиперплазии тканей жабр и лейкоцитарной инфильтрации, обычных для воспалительной реакции, не обнаружено. Капсула, образовавшаяся вокруг глохидиев, тонкостенная и состоит из 2—3 рядов клеток (рис. 1, *б*).

2. Экспериментальное заражение гольяна. Результаты экспериментального заражения гольянов глохидиями европейской жемчужницы приведены в табл. 2.

Из табл. 2 видно, что глохидии в жабрах гольяна обнаружены на ранние сроки после заражения (до 11 сут), причем с течением времени среднее число глохидиев в жабрах уменьшается, и начиная с 16-х суток они не обнаруживаются. Капсулы, образованные вокруг глохидиев в жабрах гольяна, выглядят

Таблица 2

Количество глохидиев европейской жемчужницы в жабрах гольяна после экспериментального заражения

Amount of glochidia of *M. margaritifera* in the gills of minnow after experimental infection

Дни после заражения	Количество глохидиев во внешней жаберной дужке					
	№ экземпляра					средняя
	1	2	3	4	5	
2	205	1	10	110	2	65.6+40.4
4	4	0	0	0	95	19.8+18.8
8	0	0	0	34		8.5+8.5
11	0	7	12	5	3	5.4±2.0
16	0	0	0	0	0	0
18 *	0	0	0	0	0	0

Примечание. * На 18-е сутки после заражения было исследовано всего 20 экз. гольянов. Ни в одном из них глохидии не обнаружены.

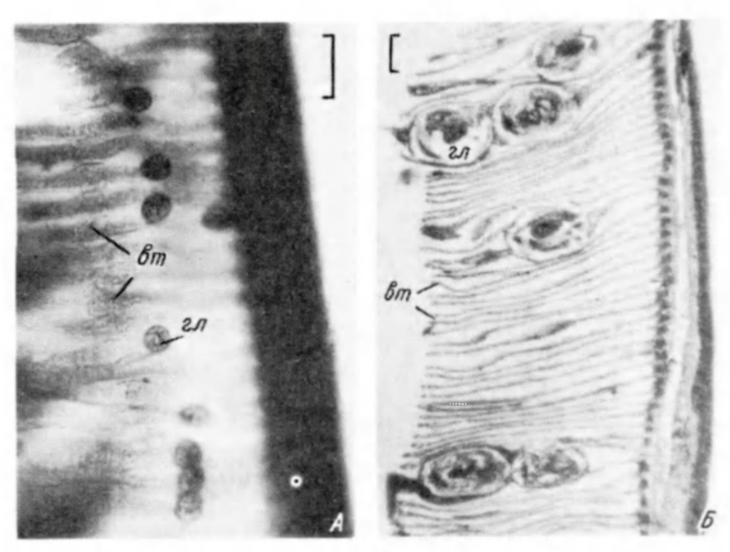


Рис. 1. Глохидии европейской жемчужницы (*M. margaritifera*) в жабрах семги (*S. salar*).

А — тотальный препарат первичного жаберного лепестка через 2 сут после заражения; *Б* — продольный срез первичного жаберного лепестка через 18 сут после заражения. Масштаб линейки 100 мкм; *вт* — вторичный жаберный лепесток; *гл* — глохидий.

Fig. 1. Glochidia of *M. margaritifera* in gills of *S. salar*.

чрезвычайно толстыми и имеют неправильную форму (рис. 2, *б*). После выпадения глохидиев из жабер наблюдается деструкция жаберных лепестков по сравнению с жабрами незараженных рыб (рис. 2, *а, в*). Увеличения размеров глохидиев с течением времени не наблюдалось.

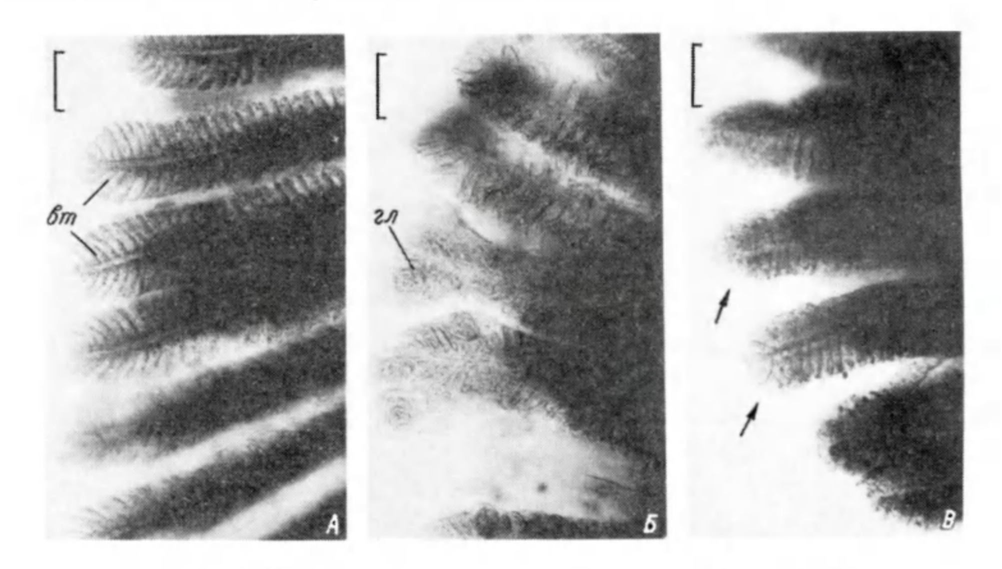


Рис. 2. Первичные жаберные лепестки гольяна (*Ph. phoxinus*).

А — до заражения глохидиями европейской жемчужницы (*M. margaritifera*): *Б* — через 2 сут, *В* — через 12 сут после заражения. Поврежденные вторичные жаберные лепестки отмечены стрелками. Масштаб линейки 100 мкм.

Остальные обозначения, как рис. 1.

Fig. 2. Primary gill filaments of *Ph. phoxinus*.

ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные экспериментальные данные показывают, что в реках Кольского п-ова специфическим хозяином глохидиев европейской жемчужницы является семга. Гольян как неспецифический хозяин хотя и заражается глохидиями, но в его жабрах они не проходят метаморфоз, и к 16-м суткам наблюдается полное освобождение рыб от паразитов, связанное к тому же с патологическими изменениями в строении жабр. У семги даже очень интенсивное по сравнению с естественным заражение 5—7 тыс. глохидиев не вызывает такого эффекта. Таким образом, широко распространенное в отечественной паразитологической литературе мнение, что основным хозяином глохидиев жемчужницы является гольян (Жадин, 1939; Быховский, 1962, и др.), ошибочно. Причиной ошибки послужило то обстоятельство, что в своем эксперименте Жадин не имел возможности проследить взаимодействие глохидиев с жабрами гольяна после 5 сут наблюдений. Аналогичное недоразумение случилось и с Властовым (1933), исследовавшим хозяев жемчужницы в р. Кереть (Карелия). Он обнаружил, что у щуки (*Esox lucius*), плотвы (*Rutilus rutilus*), уклейки (*Alburnus alburnus*) глохидии не закрепляются в жабрах, а у окуня (*Perca fluviatilus*) глохидии закрепляются, подобно тому, что наблюдал и Жадин у гольяна. «В условиях полевой работы удалось проследить их развитие на окуне лишь в течение 4 сут после заражения», — писал Властов (с. 27) о глохидиях жемчужницы, но тем не менее счел возможным утверждать, что окунь является подходящим хозяином для глохидиев.

На основе этих ошибочных данных в 1933 г. учениками Властова была сделана попытка акклиматизации моллюсков из Мурманской обл. в Карелию в ручьи бассейна Петрозера (близ Петрозаводска), где обитал окунь, но не было лососевых рыб, это привело к неудаче акклиматизации (Макаров, 1933).

Продемонстрированная нами специфичность личинок жемчужницы к хозяевам — лососям в реках европейского севера СССР подтверждается данными зарубежных авторов. В реках Шотландии хозяином жемчужницы является семга, а также кумжа *Salmo trutta* (Young, Williams, 1984). Здесь уместно отметить, что в некоторых реках северо-запада РСФСР, где отсутствует семга, но имеется кумжа и ее жилая форма — форель, также встречаются небольшие популяции жемчужниц (Голубев, Есипов, 1973). Видимо, на европейском севере СССР жемчужницы проявляют специфичность на уровне рода — их хозяевами могут быть представители рода благородных лососей *Salmo*.

В реках северо-востока США хозяином европейской жемчужницы, кроме кумжи, является также американская палия *Salvelinus fontinalis* (Smith, 1976). Интересно, что глохидии жемчужницы из рек ФРГ обнаруживают высокую смертность в жабрах американской палии, акклиматизированной в ФРГ; более того, такая же высокая смертность их наблюдалась в жабрах гибридов кумжи и американской палии, хотя кумжа является основным хозяином жемчужницы в ФРГ (Bauer, 1987).

В реках северо-запада США хозяином глохидиев жемчужницы *Margaritifera margaritifera falcata* (в понимании Старобогатова, 1970, эта жемчужница принадлежит к роду *Dahurinaia*) являются: стальноголовый лосось *Salmo gairdneri*, лосось Кларка *Salmo clarcki*, а также ряд видов тихоокеанских лососей рода *Oncorhynchus* (Meyers, Millemann, 1977). Любопытно, что стальноголовый лосось, акклиматизированный в Европе, полностью резистентен к глохидиям европейской жемчужницы из рек Англии (Young, Williams, 1984) и ФРГ (Bauer, 1987). Глохидии японской жемчужницы *Margaritifera laevis* успешно проходят метаморфоз на жабрах стальноголового лосося и ряда видов тихоокеанских лососей рода *Oncorhynchus* (Awakura, 1968).

Бауэр (Bauer, 1987) считает возможным хозяином глохидиев европейской жемчужницы тайменя *Hucho hucho* и отмечает, что хариус *Thymallus thymallus*

(являющийся массовым видом в Европе) полностью резистентен к глохидиям жемчужницы.

Часть глохидиев жемчужницы гибнет и отторгается даже в жабрах рыб — специфических хозяев, причем доля погибающих глохидиев на жабрах мальков лососей колеблется от 25 до 88 % (Fustish, Myllemann, 1978; Young, Williams, 1984). По-видимому, возможны два механизма гибели глохидиев. На «неподходящих» хозяевах глохидии отторгаются в результате неспецифической тканевой реакции, сопровождаемой гиперплазией тканей (Meyers e. a., 1980), причем сбрасывание глохидиев идет относительно быстро. На специфических хозяевах, по мнению Бауэра (Bauer, 1987), возможна гибель глохидиев от гуморальной реакции — выработки антител, причем сила гуморальной реакции прямо зависит от количества внедрившихся в жабры глохидиев, а также от того, первое это заражение или повторное. Срок развития глохидиев на рыбе от 2 недель до 8 мес. (Bauer, 1979).

Таким образом, в отличие от большинства изученных моллюсков — унионид, которые имеют широкий набор рыб-хозяев (например, у ряда видов моллюсков сем. Lampsilidae от 6 до 13 видов хозяев, принадлежащих к семействам окуневых, сельдевых, щуковых, угревых и других — Cocker e. a. 1922), жемчужницы узкоспецифичны. Их хозяева принадлежат всего к 3 родам единственного сем. Salmonidae подсем. Salmoninae: *Salmo, Salvelinus, Oncorynchus* — обитателей холодных быстротекущих каменистых рек северного полушария. Представляется, что эта узкая специфичность неслучайна. Палеонтологические находки тихоокеанских жемчужниц рода *Dahurinaia* и лососей *Oncorhunchus* известны из эоцена Японии, Камчатки, запада США, а находки *Margaritifera* и рыб *Salmo* известны из плиоцена Европы (Старобогатов, 1970; Сычевская, 1986). Возможно, что лососи и жемчужницы эволюционировали совместно, т. е. предки жемчужниц могли проникнуть из моря и заселить реки, используя лососей, в период перехода предков лососевых к проходному образу жизни.

Список литературы

Быховский Б. Е. (Ред.). Определитель пресноводных рыб СССР. М.; Л.: Изд-во АН СССР, 1962. 776 с.

Властов Б. В. Биология жемчужницы и проблема использования ее раковины как перламутрового сырья // Тр. Бородин. биол. ст. в Карелии. 1933. Т. 7, № 2. С. 5—36.

Голубев Б. Ф., Есипов А. Б. Запасы пресноводной жемчужницы некоторых рек северо-запада РСФСР // Тр. ВНИИ ювелир. промышл. 1973. Т. 3. С. 51—68.

Жадин В. И. К экологии жемчужницы // Изв. ВНИОРХ. 1939. Т. 21. С. 351—358.

Зюганов В. В., Незлин Л. П., Старостин В. И., Зотин А. А., Семенова М. Н. Экология и стратегия охраны и воспроизводства исчезающих видов жемчугоносных моллюсков на примере европейской жемчужницы // Журн. общ. биол. 1988. Т. 49, № 6. С. 801—812.

Макаров В. В. Опыт акклиматизации жемчужницы // Тр. Бородин. биол. ст. в Карелии. 1933. Т. 7, № 2. С. 37—45.

Старобогатов Я. И. Фауна моллюсков и зоогеографическое районирование континентальных водоемов. Л.: Наука, 1970. 372 с.

Сычевская Е. К. Пресноводная палеогеновая ихтиофауна СССР и Монголии. М.: Наука, 1986. 157 с.

Awakura T. The ecology of the parasitic glochidia of the freshwater pearl mussel, Margaritifera laevis (Haas) // Sci. Rep. Hokkaido Fish Hatchery. 1968. N 23. P. 1—21.

Bauer G. Untersuchugen zur Fortpflanzungs biologie der Flussperlmuschel (Margaritana margaritifera) im Fichtelgebirge // Arch. Hydrobiol. 1979. Vol. 85, N 2. P. 152—165.

Bauer G. The parasitic stage of the freshwater pearl mussel (Margaritifera margaritifera L.). III Host relationships // Arch. Hydrobiol. 1987. Vol. 76, N 4. P. 413—423.

Cocker R. E., Shira A. F., Clark H. W., Howard A. D. Natural History and propagation of fresh-water mussels // Bull. U. S. Bur. Fish. 1922. Vol. 37. P. 75—181.

Fustish C. A., Millemann R. E. Glochidiosis of salmonid fishes, II // Parasitology. 1978. Vol. 64. P. 155—157.

Harms W. Zur Biologie und Entwicklungsgeschichte der Flussperlmuschel // Zool. Anz. 1907. Vol. 31. P. 814—824.

Meyers T. R., Millemann R. E. Glochidiosis of salmonid fishes. I // J. Parasitology. 1977. Vol. 63, N 4. P. 728—733.
Meyers T., Millemann R., Fustish C. Glochidiosis of salmonid fishes. IV // S. Parasitology. 1980. Vol. 66. P. 274—281.
Murphey G. Relationship of the freshwater pearl mussel to trout in the Truckee River // Calif. Fish Game. 1942. Vol. 28. P. 89—102.
Smith D. G. Notes on the ecology of Margaritifera margaritifera in Central Massachusetts // Amer. Middl. Nat. 1976. Vol. 96. N 1. P. 252—256.
Wellmann G. Fischinfektion mit Glochidien der Margaritifera margaritifera // Z. Fischerei. 1943. Vol. 41. P. 358—390.
Young M., Williams S. The reproductive biology of the freshwater mussel in Scotland II. Laboratory studies // Arch. Hydrobiol. 1984. Vol. 100, N 1. P. 29—43.

Институт биологии развития
им. Н. К. Кольцова, Москва

Поступила 9.03.1989

HOST-PARASITE RELATIONSHIPS BETWEEN GLOCHIDIA OF MARGARITIFERA MARGARITIFERA (MARGARITIFERIDAE, BIVALVIA) AND MASS SPECIES OF FISHES FROM THE EUROPEAN NORTH OF THE USSR

V. V. Zjuganov, L. P. Nezlin, A. A. Zotin, A. S. Rozanov

Key words: glochidia, Margaritifera margaritifera, host-parasite relationships, salmon, minnow

SUMMARY

Narrow specifity of larvae (glochidia) of *Margaritifera margaritifera* to salmon in the rivers of the Kola Peninsula was proved experimentally. It was found that in the gills of minnow, the other mass fish in the nothern rivers of the USSR, larvae of *M. margaritifera* cannot develop and perish. Reasons causing the narrow specificity of *M. margaritifera* to Salmonidae are discussed.
